

免疫凝集測定装置 PAMIA-40i による HBs 抗原及び TP 抗体全血測定の基礎的検討

島 英明, 広瀬 和彦, 宇津木 道弘

東京医科大学病院 中央検査部: 新宿区西新宿 6-7-1 (〒160-0023)

SUMMARY

全血試料を用いて HBs 抗原, TP 抗体測定を可能にした免疫凝集測定装置 PAMIA-40i (シスメックス社) の基本的性能の評価を行った。

再現性, 血清試料を用いた測定結果との一致率, CBC 異常検体における本測定法への影響などを検討した結果, 満足できる基本性能が認められた。

本法は測定開始から報告までが約 17 分と短時間で完了し, 操作性も簡便であるところから, 特に緊急検査に有用な検査方法であると考えられた。

Key Words 免疫凝集測定装置, PAMIA, 迅速測定, 全血, 血清, HBs 抗原, TP 抗体

はじめに

緊急外来時, あるいは緊急手術を要す場合においては感染症検査の迅速な報告が望まれている。免疫凝集測定装置 PAMIA-40i (以下 PAMIA-40i) は全血試料を用いることにより感染症検査の迅速報告が可能である。今回, HBs 抗原, TP 抗体に関して PAMIA-40i の全血測定機能の基礎的検討を行ったので報告する。

測定原理

PAMIA - 40i の測定原理 Particle Counting

Immunoassay 法(PCIA 法)は血球計数器の技術を免疫検査に応用した技術であり, 短時間で高感度な精密測定を可能にしている。即ち検体と抗原もしくは抗体感作ラテックス粒子を反応させたものを, シースフロー機構によりフローセル中央部に導き, ここにレーザー光を照射したときに生じる散乱光を測定することで, 凝集したラテックス数(polymer: P)と未凝集のラテックス数(monomer: M)を計数する。この P と M から凝集度 $P / T (T = P + M)$ を求め, 検量線より凝集度に応じた濃度を算出する(図1, 図2)。

散乱光は粒子の大きさの違いによりその強度が異なるため, PAMIA-40i では反応した粒子, 未反応の

粒子及び血球成分をそれぞれ区別して計数する機能をもっている。これにより計数した血球数から濃度

補正をすることで血清測定値と相関する全血測定値が得られる(図3)。

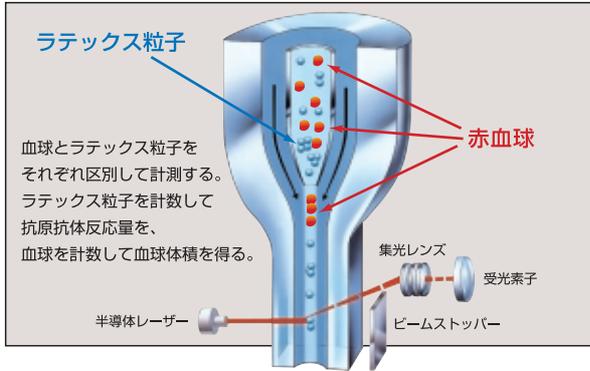


図1．全血検体測定時の粒子分布イメージ

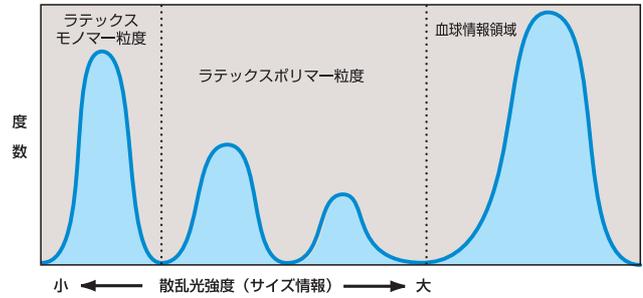
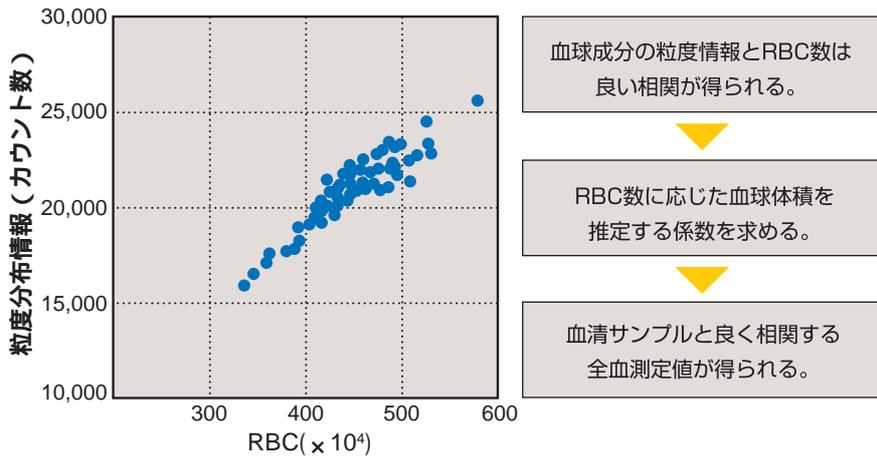
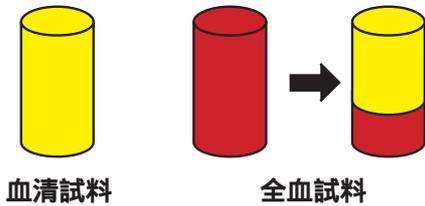


図2．全血検体測定時の粒度分布イメージ



血球成分の粒度情報と血球体積



全血試料は抗原抗体反応に関与する血清成分が少ない
全血測定値 < 血清測定値 となる

全血測定値を血清測定値にあわせる為、血球体積の割合を補正する必要がある

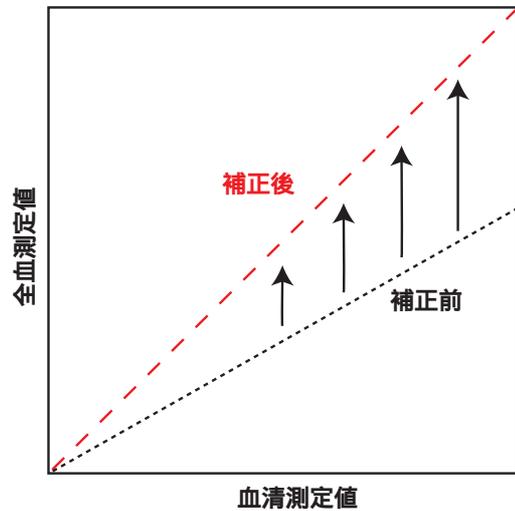


図3．全血測定時の血球成分の補正原理

対象及び方法

今回検討に用いた試薬はランリーム HBsAg, ランリーム TP(シスメックス社), 自動測定装置には, 免疫凝集測定装置 PAMIA-40i を使用した。カットオフ値は, キット添付文書に従いランリーム HBsAg は 0.5U/mL 以上を陽性, 0.5U/mL 未満を陰性とし, ランリーム TP は 30SU/mL 以上を陽性, 10 ~ 30SU/mL を判定保留, 10SU/mL 未満を陰性とした。

採血には全血試料は EDTA 採血管, 血清試料はブレイン採血管を用い, 採血当日に測定評価した。

検討結果

1. 同時再現性

全血試料, 血清試料ともにそれぞれ3試料について10回連続測定を行った。HBs 抗原測定における CV 値は血清試料で 1.23 ~ 5.21 %, 全血試料で 1.86 ~ 7.32 % であった。TP 抗体測定における CV 値は血清試料で 3.11 ~ 4.18 %, 全血試料で 1.92 ~ 3.56 % であった。全血試料と血清試料で再現性に大きな差異は認めなかった(表1)。

表1. 同時再現性

	HBs 抗原					
	全血試料			血清試料		
	Sample1	Sample2	Sample3	Sample1	Sample2	Sample3
1	2.20	12.13	81.57	1.02	6.14	49.05
2	1.95	12.28	76.78	0.90	6.09	49.38
3	2.06	12.31	74.27	1.03	6.29	49.24
4	1.93	12.04	77.57	0.94	6.01	49.57
5	1.96	11.90	71.63	1.06	6.03	47.75
6	2.06	11.68	73.18	0.97	6.33	48.21
7	1.86	12.02	68.36	0.94	6.09	48.05
8	2.15	11.62	68.00	0.98	6.12	48.13
9	2.16	11.96	64.49	0.91	6.18	48.50
10	1.98	12.23	65.57	0.94	6.54	48.78
Mean(U/mL)	2.03	12.02	72.14	0.97	6.18	48.67
SD(U/mL)	0.11	0.22	5.28	0.05	0.15	0.60
CV(%)	5.27	1.86	7.32	5.21	2.49	1.23

	TP 抗体					
	全血試料			血清試料		
	Sample1	Sample2	Sample3	Sample1	Sample2	Sample3
1	49.14	416.70	648.91	41.54	78.29	185.30
2	49.13	416.97	616.21	44.53	84.82	176.11
3	47.37	428.24	621.38	45.95	76.34	172.40
4	48.91	423.75	628.01	42.65	80.53	172.51
5	47.78	433.96	625.82	41.77	85.76	170.57
6	48.86	446.56	657.09	43.12	79.41	166.75
7	46.74	462.73	608.62	42.82	85.47	179.88
8	47.04	438.60	584.94	41.36	77.31	175.45
9	49.43	406.96	598.80	40.84	80.61	178.10
10	47.98	430.29	595.05	42.24	77.52	167.59
Mean(SU/mL)	48.24	430.48	618.48	42.68	80.61	174.47
SD(SU/mL)	0.93	15.34	21.76	1.48	3.37	5.42
CV(%)	1.92	3.56	3.52	3.46	4.18	3.11

2. 全血試料と血清試料の判定一致率

161 検体を用いた HBs 抗原測定における判定一致率は 100 %，160 症例を用いた TP 抗体測定における判定一致率は 98.8 % と良好な結果が得られた(表2)。不一致の 2 検体は，血清試料では (±)，全血試料で (+) であった。

3. 全血試料における陰性例の測定分布

陰性試料の測定値の分布では，HBs 抗原測定における全血試料の平均値は 0.06 U/mL，最大値は 0.35 U/mL であった。

TP 抗体測定における全血試料の平均値は 0.56 SU/mL，最大値は 7.54 SU/mL であった(図4)。

4. 全血試料の静置時間 (血沈) による

全血補正機能への影響

採血後から全血試料を静置すると時間経過とともに血球の沈降が起こる。PAMIA-40i は全血試料中の血球情報から血球体積の割合を算出し濃度補正後，測定結果を求めることから，濃度補正機能が血球の沈降の過程に対応できているのかを HBS 抗原を用いて確認した。静置 0 分から 70 分後の全血試料測定値の変化率 5.0% 以内で大きな変動は認めなかった。

5. CBC 異常値検体における

全血試料と血清試料の判定一致率

CBC 項目(MCV, PLT, RBC, WBC)に異常が認められた症例の全血試料及び血清試料を用いて，両者の判定一致率を求めた(表3)。

なお，今回用いた 40 例異常検体の血液学的測定値は以下の通りである。

MCV 異常症例は $50\mu\text{m}^3$ 以下の低値症例 7 例， $130\mu\text{m}^3$ 以上の高値症例 8 例，血小板異常症例では $2.0 \times 10^3 / \mu\text{L}$ 以下の低値症例 9 例， $1000 \times 10^3 / \mu\text{L}$ 以上の高値症例 9 例，赤血球数異常症例では $1.0 \times 10^6 / \mu\text{L}$ 以下の低値症例 9 例， $7.0 \times 10^6 / \mu\text{L}$ 以上の高値症例 9 例，白血球数異常症例では $0.1 \times 10^3 / \mu\text{L}$ の低値症例 7 例， $300 \times 10^3 / \mu\text{L}$ 以上の高値症例 9 例，合計 40 例(重複例あり)を用いた。

その結果，今回の検討において血清試料と全血試料の HBs 抗原，TP 抗体の測定結果は全て一致し，CBC 異常による影響は受けなかった。

表 2 . 一致率

HBs 抗原		全血試料	
		(-)	(+)
血清試料	(-)	121	0
	(+)	0	40

TP 抗体		全血試料		
		(-)	(+ / -)	(+)
血清試料	(-)	126	0	0
	(+ / -)	0	5	2
	(+)	0	0	27

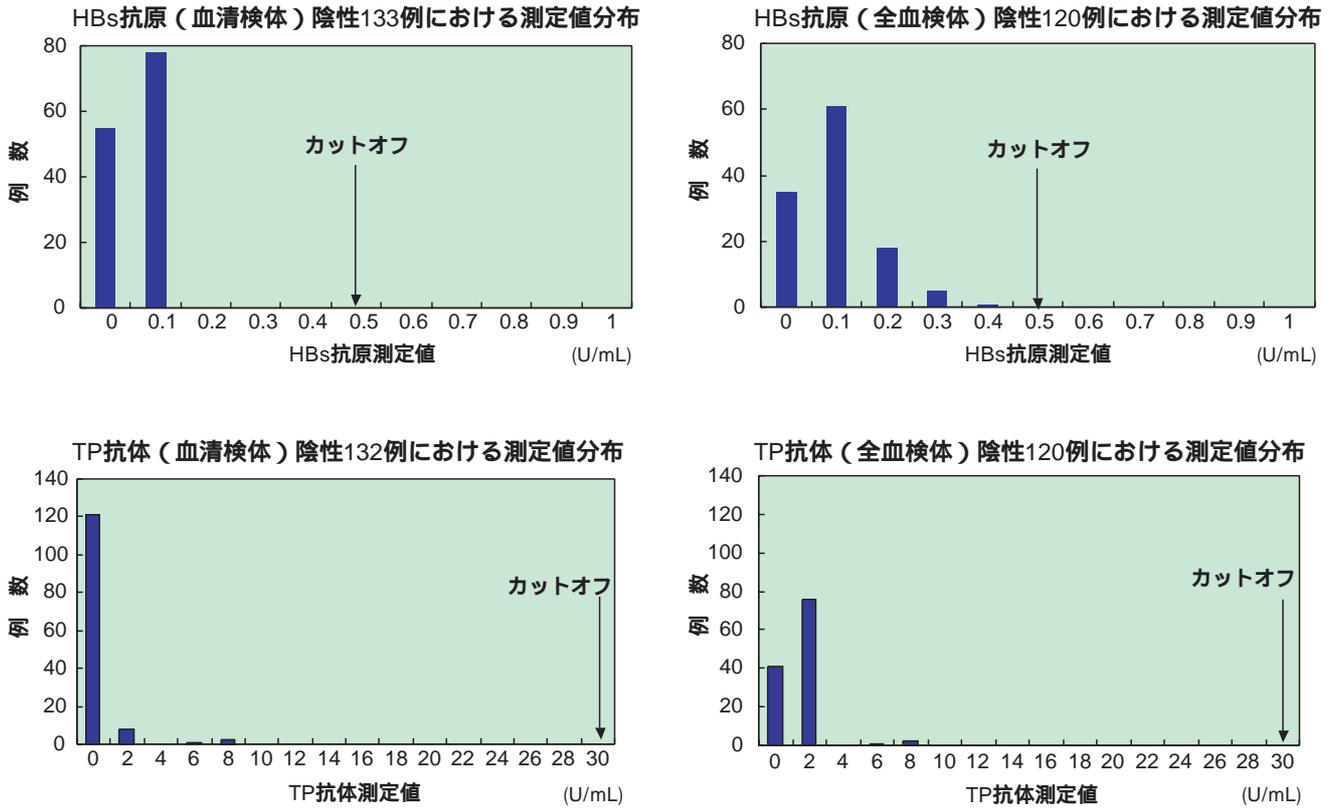


図4．陰性例における測定値分布

表3．CBC異常検体における判定一致率

No	HBs抗原		TP抗体		MCV		PLT		RBC		WBC	
	全血	血清	全血	血清	高値異常	低値異常	高値異常	低値異常	高値異常	低値異常	高値異常	低値異常
1	0.01-	0.08-	0.00-	0.00-								
2	0.25-	0.12-	335.14+	309.33+								
3	>200+	922.93+	0.00-	0.00-								
4	0.00-	0.00-	0.00-	0.00-								
5	0.12-	0.02-	0.00-	0.00-								
6	0.00-	0.02-	0.00-	0.00-								
7	0.00-	0.02-	0.00-	0.00-								
8	0.00-	0.05-	0.00-	0.00-								
9	0.35-	0.14-	1.26-	0.00-								
10	0.00-	0.05-	0.00-	0.00-								
11	>200+	13,180+	0.00-	0.00-								
12	0.03-	0.00-	0.00-	0.00-								
13	0.00-	0.06-	0.00-	0.00-								
14	0.04-	0.03-	0.00-	0.00-								
15	0.13-	0.09-	0.00-	0.00-								
16	0.05-	0.03-	0.00-	0.00-								
17	0.09-	0.05-	0.22-	0.00-								
18	0.20-	0.06-	0.00-	0.00-								
19	0.21-	0.05-	0.66-	0.00-								
20	0.13-	0.09-	0.10-	0.00-								
21	0.29-	0.12-	2.26-	0.00-								
22	0.07-	0.05-	1.20-	0.00-								
23	0.02-	0.09-	0.00-	0.00-								
24	0.03-	0.08-	1.23-	0.00-								
25	0.04-	0.11-	0.44-	0.00-								
26	0.21-	0.03-	0.00-	0.00-								
27	0.00-	0.06-	0.00-	0.00-								
28	0.00-	0.05-	0.00-	0.00-								
29	0.01-	0.06-	0.00-	0.00-								
30	0.02-	0.05-	0.00-	0.00-								
31	>200+	2,515+	0.00-	0.00-								
32	0.09-	0.05-	1.18-	0.51-								
33	0.07-	0.05-	0.72-	0.00-								
34	0.21-	0.05-	0.00-	0.00-								
35	0.00-	0.06-	2.05-	1.56-								
36	0.20-	0.06-	0.00-	0.00-								
37	0.04-	0.03-	0.00-	0.00-								
38	0.05-	0.03-	0.00-	0.00-								
39	0.00-	0.02-	0.15-	0.00-								
40	0.00-	0.05-	0.00-	0.00-								

施設基準範囲：
MCV 84 ~ 100 (μm³)

PLT 140 ~ 340 (10³/μL)

RBC 3.7 ~ 5.4 (10⁶/μL)

WBC 2.7 ~ 8.8 (10³/μL)

血球区分	異常区分	異常値	検体数
MCV	低値	50 μm ³ 以下	7例
	高値	130 μm ³ 以上	8例
PLT	低値	2.0 × 10 ³ /μL 以下	9例
	高値	1,000 × 10 ³ /μL 以上	9例
RBC	低値	1.0 × 10 ⁶ /μL 以下	9例
	高値	7.0 × 10 ⁶ /μL 以上	9例
WBC	低値	0.1 × 10 ³ /μL 以下	7例
	高値	300 × 10 ³ /μL 以上	9例

考 察

今回われわれは、全血試料を用いてHBs抗原、TP抗体測定を可能にした免疫凝集測定装置PAMIA-40iの基本的性能の評価を行った。

再現性、判定一致率等の基本性能において良好な結果が得られた。

全血試料を測定する場合、CBC異常値や静置による血球沈降(血球数の経時的減少)が濃度算出の際の補正機能に影響を与えることが予想された。検討した結果、血清測定値と相関する全血測定値が得られ、濃度補正が其々の状況に対応し正しい結果を算出することが確認された。またFlagging機能を有しており、全血測定モードにおいて長時間静置し血漿化した試料や血清試料等を検知することで誤判定しないようになっている。

全血試料を測定する場合、サンプリング成分の中に血球が存在している。大部分が赤血球であり、体積比(HCT%)に影響されることになる。PAMIA-40iが計数する試料中の血球成分は、赤血球数と相関することが判っている。これらの情報から赤血球体積を推定する係数を求め、測定結果にかけた換算値が

全血測定値となる(図2)。TP抗体測定のカットオフ付近の結果には、TP抗体における血清試料と全血試料の不一致検体について、これらの係数換算の影響より可能性が示唆された。したがって、カットオフ付近の最終判断は、血漿もしくは血清での確認等の注意が必要と考えられた。しかしながら、緊急検査等で感染性の可能性をスクリーニングする目的に使用する場合、全血測定は利用可能と考えられた。

感染症項目の検査は、緊急外来患者、緊急手術時等において施設内感染を防ぐ対策上、重要な位置にある。特に針刺し事故時におけるHBs抗原測定については免疫グロブリン投与の判断の指標となることから迅速な報告が求められる。このような緊急時の測定において、採血後直ちに測定が行うことができる。測定開始から結果の打ち出しまで約17分で完了する。操作方法も簡便なことから特に緊急検査用のシステムをして有用であると考えられた。

参考文献

- 1) 豊田 潤：免疫凝集測定装置PAMIA-40iの概要。Sysmex J, 24: 75 ~ 78, 2002.

Investigation of Assay Reagents Using the automated immunochemical analyzer PAMIA-40i, which can analyze HBs Antigen and TP antibody with whole blood sample.

Hideaki SHIMA, Kazuhiko HIROSE, Michihiro UTSUKI

TOKYO MEDICAL UNIVERSITY CENTRAL CLINICAL LABORATORY DIVISION
6-7-1 Nishishinjuku Shinjuku-ku, Tokyo 160-0023.

SUMMARY

We evaluated the basic performance of the automated immunochemical analyzer PAMIA-40i, which can analyze HBsAg and anti-TP with whole blood sample.

We got satisfactory results for reproducibility, agreement ratio with serum sample and impact of CBC abnormal samples with whole blood analysis.

Since PAMIA-40i can report results quickly, about 17 minutes from starting, with easy operation, it is useful for an emergency testing.

Key Words

Automated Immunochemical Analyzer, PAMIA, Rapid Measurement, Whole Blood, Serum, HBsAg, Anti-TP